R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA
LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA

26.

R. PEROTTI e M. VALLEGGI

# SULLA DISSOLUZIONE ED UTILIZZAZIONE MICRORGANICA DELLA POTASSA LEUCITICA

PISA
STABILIMENTO EDITORIALE VALLERINI
1929

26.

R. PEROTTI e M. VALLEGGI

# SULLA DISSOLUZIONE ED UTILIZZAZIONE MICRORGANICA DELLA POTASSA LEUCITICA

Se si considera il dinamismo degli elementi biogeni del terreno agrario è facile convincersi come tra essi quelli meno studiati e non noti in tutte le loro fasi evolutive, sieno gli elementi basici tra cui, il più importante ai fini della nutrizione vegetale, la potassa.

Si ammette, in genere, che azioni acidificanti o saline[1] spostino la potassa dalle sue combinazioni complesse e insolubili; tra esse azioni acidificanti si è presunto doversi ascrivere pur anche le attività dei microrganismi i quali agirebbero a mezzo delle loro sostanze di rifiuto o a mezzo dei prodotti di loro elaborazione.

Circa l' influenza microbiochimica sulla leucite non abbiamo che uno studio di De Grazia e Camiola, risalente al 1905, in cui si sperimentò con alcune forme ifomicetiche (*Aspergillus niger, P. glaucum* e *brevicaule*) sopra leucite purissima ridotta in polvere impalpabile, adoperando all' uopo il liquido nutritivo di Raulin opportunamente modificato in forza delle condizioni di esperienza.[2]

I reperti analitici, dovuti ad analisi eseguite sul filtrato delle colture — che durante la loro permanenza in termostato furono giornalmente rimescolate e che non raggiunsero

---

[1] L. BERNARDINI. — *Sulle cause che determinano la mobilizzazione della potassa leucitica nel terreno.* - Staz. Sper. Agrarie Italiane, vol. XLI, pag. 304. È riferito che la potassa leucitica è disciolta da soluzioni di sali di sodio, di ammonio e, più debolmente, di calcio e di magnesio.

[2] S. DE GRAZIA e G. CAMIOLA. — *Sull' intervento dei microrganismi nella utilizzazione della potassa leucitica del suolo da parte delle piante superiori.* - Staz. Sper. Agrarie Italiane, vol. XXXIX, 1906, pag. 287 e seg.

mai uno sviluppo rigoglioso — condussero gli sperimentatori a concludere in favore di un' azione solubilizzatrice e di una utilizzazione da parte delle muffe nei riguardi della potassa leucitica, facendo anche rilevare la non trascurabile azione solvente esercitata dal liquido nutritivo.

Una conferma o meno sperimentale ed un' indagine intesa a stabilire se e in quale misura tale solubilizzazione si determinasse si rendeva quindi opportuna — tanto più in questo momento in cui le concimazioni potassiche sono prese nella loro giusta considerazione ed anzi si tenta utilizzare direttamente i materiali potassici insolubili.

Quest'anno sono state condotte alcune prove orientative, la cui esposizione forma oggetto della presente Nota.

Il materiale usato apparteneva a campioni conservati nel Gabinetto di Chimica Agraria di questo Istituto Superiore. Ne furono presi in esame due: uno di aspetto e di costituzione granulare, l'altro finemente pulverulento.

Le ricerche si portarono su entrambi parallelamente, allo scopo di determinare le eventuali differenze circa il loro comportamento di fronte alle azioni batteriche.

Prima di ogni altra prova si rendeva anzitutto necessario stabilire la quantità di potassa contenuta nei due campioni.

Le analisi condotte, con metodo ordinario, a mezzo della precipitazione con cloroplatinato idrico fornirono i dati seguenti:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Leucite granulosa . . . | $K_2O$ | gr. 1,14 | % |
| » pulverulenta . . | » | » 5,0760 | » |

I.

## Influenza della sterilizzazione sulla leucite.

Prima di procedere a prove colturali si rendeva indispensabile di provare se e come i diversi metodi di sterilizzazione potessero influire sulla solubilizzazione della potassa leucitica nelle soluzioni nutritive in cui essa veniva impiegata.

Queste esperienze si portarono sui processi di sterilizzazione ordinaria con i risultati qui appresso riferiti.

A) *Nel vapor d'acqua a 125° C. in autoclave.*

Gr. 2,5 di ciascun tipo di leucite, granulare e pulverulenta, furono esattamente pesati e aggiunti a cc. 500 di acqua di condottura, in Erlenmeyer da 1000 cc. Quindi si mantennero a 125° C. per 12 minuti; ed il liquido, dopo filtrato e riportato a volume, fu sottoposto ad analisi.

I risultati riferiti al peso della sostanza originaria impiegata, furono:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Leucite granulare | . . . | $K_2O$ gr. | 0,1960 % |
| » polverulenta | . . » | » | 0,2160 » |

Essi dimostrano che, per azione del calore umido e della pressione, viene solubilizzata una piccola parte di potassa contenuta nelle leuciti. Tale solubilizzazione apparisce un poco maggiore nel campione a costituzione pulverulenta.

B) *Nel vapor d'acqua fluente.*

Furono allestite due beute da 1000 cc. con quantità di materiale leucitico ed acqua uguali a quelle della precedente prova.

Furono mantenute in tre giorni consecutivi, per 20 minuti ciascuna volta, nella pentola di Koch.

Quindi furono eseguite le determinazioni che fornirono i dati che seguono:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Leucite granulare | . . . | $K_2O$ gr. | 0,2400 % |
| » pulverulenta | . . » | » | 0,3400 » |

Viene dedotto da essi che l'azione del vapore fluente (se, forse, non la più prolungata permanenza nell'acqua) influisce sulla solubilizzazione della potassa leucitica in più forte misura che non il vapore surriscaldato.

In accordo a ciò che si rilevò per questo, la sua azione apparisce maggiore per la leucite polverulenta che non per quella granulare.

C) *Pasteurizzando.*

Era ancora a vedersi l'influenza della pasteurizzazione. All'uopo furono allestite, come di solito, le due Erlenmeyer e furono tenute in tre giorni consecutivi, per la durata di due ore ciascuna volta, nel bagno d'acqua regolato a 55° C.

Furono notati i risultati di cui appresso:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Leucite granulare | . . . | $K_2O$ gr. | 0,9200 % |
| » pulverulenta | . . » | » | 1,0800 » |

L'azione della pasteurizzazione fu più intensa delle altre, e considerevolmente.

Come nel vapor d'acqua fluente una maggiore solubilizzazione si ottenne dalla leucite pulverulenta.

*Le ricerche di cui sopra permettono allora, e intanto, di stabilire che le leuciti liberano in soluzione parte più o meno considerevole di potassa nei processi di sterilizzazione. Che tra essi quello che si dimostrò di azione più blanda fu quello del vapore sovrariscaldato a 125° C. per 12 minuti.*

## II.

## Comportamento dei microrganismi verso la potassa leucitica.

Le prove precedenti fornivano pertanto dati favorevoli a l' impiego della sterilizzazione in autoclave.

Tuttavia, prima di iniziare le prove colturali se ne è voluto ottenere nuova conferma.

In due Erlenmeyer da 1000 cc. furono versati cc. 500 di acqua di condottura ed aggiunti gr. 0,5 di leucite, per ogni beuta, granulare e pulverulenta rispettivamente.

Si sterilizzò in autoclave a 125° C. per 12 minuti; dopodichè si decantò il liquido, si lavò per tre volte il residuo, si ripristinò il volume di acqua nelle beute e si sterilizzò di nuovo. Infine dosata la potassa, si ebbe:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Leucite granulare | . . . | $K_2O$ gr. | 0,1200 % |
| » pulverulenta | . . » | » | 0,2000 » |

Dunque, *anche una seconda sterilizzazione solubilizza potassa leucitica previamente sterilizzata e lavata, in proporzioni presso a poco uguali a quelle ottenute nel primo trattamento:* quindi basse e costituenti quanto di meglio poteva ottenersi da un mezzo colturale contenente leucite da cui debba eliminarsi ogni microrganismo vivente.

Una prima indagine colturale fu *orientativa* e venne praticata senza sterilizzare il liquido di coltura.

Si prepararono cc. 500 della seguente soluzione:

| | | |
|---|---|---|
| cloruro di calcio | . . . . . | gr. 0,05 |
| solfato di magnesio | . . . . | » 0,15 |

| | | |
|---|---|---|
| cloruro sodico . . . . . | » | 0,05 |
| cloruro ferrico . . . . . | » | 0,005 |
| fosfato ammonico . . . . . | » | 0,50 |
| acqua distillata . . . . . | cc. | 500 |

e si distribuirono in parti uguali in due Erlenmeyer da 1000 cc. Una di queste si lasciò di controllo; nell'altra si aggiunsero gr. 0,25 di leucite granulare. Inoculate poi con 2/10 di cc. di stemperamento acquoso di terreno (1 : 5) e coltivate in termostato a 25° C., dopo 15 giorni di coltura, non si apprezzò sia nell' una come nell' altra beuta, alcun sensibile inizio di sviluppo.

Ciò, probabilmente, per mancanza di materiale energetico.

Si aggiunse allora alle colture il 20 °/₀₀ di saccarosio, nel mentre che, in ugual modo, si preparò un' altra beuta, contenente gr. 0,25 di leucite, non però inoculandola con il terreno.

Al 30° giorno si procedette all'esame definitivo constatando :

1.° che il maggiore sviluppo si era determinato nella beuta non artificialmente inoculata;

2.° che per intensità di sviluppo ad essa seguivano in ordine decrescente la beuta non contenente leucite e, infine, quella contenente leucite.

L'analisi del liquido colturale di quest'ultima dette che la potassa passata in soluzione era uguale a gr. 0,80 °/₀.

Sulla scorta di questo primo, parziale dato si istituirono le altre esperienze; ma fino da allora era da presumere che lo sviluppo microbico non fosse gran che favorito dalla leucite, di cui nel liquido colturale veniva a passarne una quantità molto limitata (0,8 °/₀) quella dovuta alla sterilizzazione essendo intorno al 0,2 °/₀.

In un secondo tempo si allestirono altre 10 Erlenmeyer dove si versarono per ciascuna cc. 250 della soluzione avente la composizione sopracitata, aggiungendovi gr. 5 di saccarosio e gr. 0,25 di leucite granulosa. Sterilizzato tutto in autoclave si procedette secondo questo piano:

2 beute si lasciarono sterili come *controllo;*

2 » s'inocularono con 4/10 di *stemperamento acquoso di terreno,*

2 » s'inocularono con *Penicillium glaucum,*

2 » » *Macrosporiun commune,*

2 » » *Bact. violaceum.*

I vasi colturali a temperatura ambiente, che in molti giorni fu superiore 25° C., furono sorvegliati notando le eventuali differenze di sviluppo; ed alla fine si analizzarono i liquidi filtrati.

*Reperti colturali.*

*a)* Stemperamento di terreno:

Intorbidamento rapido; fin dal 6.° giorno; sviluppo di ifomiceti, la vegetazione dei quali si dimostrò aumentare nei giorni successivi fino a formare spessa e abbondante coperta.

*b) Penicillium glaucum:*

Sviluppo normale in ambedue le colture.

*c) Macrosporium commune:*

Sviluppo lento con formazione, in fine, di coperta poco più che mediocre.

*d) Bact. violaceum :*

Intorbidamento lento, ma uniforme: il liquido rimase scorrevole, ma assunse una colorazione giallognola ed in alcuni punti violacea.

*Reperti analitici.*

I reperti analitici avuti dopo 60 giorni di coltura, sono consegnati nel seguente prospetto:

| | $K_2O$ trovata in soluzione nel liquido colturale gr. | $K_2O$ riferita a gr. 100 di leucite | MEDIA |
|---|---|---|---|
| Controllo . . . . . | 0.0100 | 4.00 | 3.52 |
| | 0.0076 | 3.04 | |
| Stemperamento di terreno . | 0.0073 | 2.94 | 2.52 |
| | 0.0053 | 2.12 | |
| *Penicillium glaucum* . . . | 0.0030 | 1.20 | 1.32 |
| | 0.0035 | 1.44 | |
| *Macrosporium commune* [3] . | 0.0009 | 0.36 | 0.50 |
| | 0.0016 | 0.64 | |
| *Bact. violaceum* . . . . . | 0.00019 | 0.076 | 0.096 |
| | 0.00020 | 0.116 | |

Queste prove mostrano evidente nel liquido di controllo una proporzione di potassa in soluzione rilevantemente superiore a quella rinvenuta nelle colture.

[3] I liquidi nutritivi di questa forma non furono potuti analizzare, come gli altri al 60.° giorno di coltura, bensì lo furono al 22.° giorno.

In ordine di decrescente peso di potassa disciolta si hanno: la coltura bruta ottenuta dal terreno, quella di *Penicillium,* quella di *Bact. violaceum.*

La solubilizzazione avvenuta nelle Erlenmeyer di controllo è naturalmente dovuta alla prolungata permanenza della leucite in acqua.

D'altro lato, gli altri reperti analitici permettono di ritenere che i *microrganismi cimentati abbiano utilizzato,* per lo meno, la potassa che si sarebbe dovuta disciogliere per questo fatto — oltre ad altra eventualmente solubilizzata per azioni di natura biochimica — nella costituzione del loro corpo; giacchè, se così non fosse stato, nei liquidi colturali se ne sarebbe dovuto trovare presente, per lo meno, una quantità uguale a quella del controllo.

È questo certamente un punto importante delle conclusioni derivato dalle presenti ricerche.

La potassa minerale, passando solubilizzata o non nel corpo dei microrganismi umicoli, si trasforma, almeno in gran parte, in potassa organica.

È il fatto vantaggioso o non alla coltivazione delle piante agrarie?

E se lo è quali sono i limiti del fatto e del suo valore?

Intanto si potrebbe arguire di una diversa capacità (o bisogno) di utilizzazione della potassa solubile da parte delle diverse specie microrganiche, poichè le tre forme coltivate hanno lasciato residui di potassa in soluzione tra loro diversi.

Un' ultima prova eseguita fu quella di determinare la solubilizzazione della potassa leucitica in colture allestite con aggiunte al liquido nutritivo di sali fisiologicamente acidi, basici od anfoteri.

Si prepararono 9 beute contenenti ciascuna l' 1 °/₀₀ di leucite granulosa sospesa nella seguente soluzione:

| | |
|---|---|
| cloruro di calcio . . . . . | gr. 0,025 |
| solfato di magnesio . . . . . | » 0,075 |
| cloruro sodico . . . . . | » 0,025 |
| fosfato tricalcico . . . . . | » 0,25 |
| saccarosio . . . . . | » 5 — |
| cloruro ferrico . . . . . | tracce |
| acqua . . . . . | cc. 250 |

A tre di esse si aggiunsero gr. 0,25 di solfato ammonico; a tre gr. 0,25 di nitrato ammonico; alle ultime tre, infine, gr. 0,25 di nitrato di calcio.

Una beuta di ogni serie fu lasciata sterile: le altre furono inoculate con uno stemperamento (1 : 5) acquoso di terreno. Si coltivò a 25° C. per 22 giorni, al termine dei quali fu proceduto alle analisi.

*Reperti colturali.*

*a)* Colture contenenti solfato ammonico:

Intorbidamento fortissimo fin dal secondo giorno dell' inoculazione. Esso si mantenne costante fino al 13.° giorno di coltura, epoca in cui ebbe pure inizio una considerevole vegetazione fungina: il suo sviluppo, peraltro, non raggiunse proporzioni notevolissime.

*b)* Colture contenenti nitrato ammonico:

Intorbidamento in un primo tempo; indi sviluppo ifomicetico abbondante.

*c)* Colture contenenti nitrato di calcio:

Come nelle precedenti lo sviluppo batterico ebbe inizio rapido e considerevole; in seguito non mancò la solita formazione fungina.

*Reperti analitici.*

Essi sono consegnati nel prospetto che segue:

| LIQUIDI NUTRITIVI CONTENENTI: | DETERMINAZIONE | $K_2O$ % trovata in soluzione nel liquido colt. gr. | $K_2O$ riferita a gr. 100 di leucite | MEDIA |
|---|---|---|---|---|
| *a)* solfato ammonico | controllo | 0.0022 | *0.88* | |
| | coltura attiva | 0.0024 | 0.96 | **0.98** |
| | „ „ | 0.0025 | 1.— | |
| *b)* nitrato ammonico | controllo | 0.0021 | *0.84* | |
| | coltura attiva | 0.0043 | 1.72 | **1.76** |
| | „ „ | 0.0045 | 1.80 | |
| *c)* nitrato di calcio | controllo | 0.0015 | *0.60* | |
| | coltura attiva | 0.0028 | 1.12 | **1.26** |
| | „ „ | 0.0035 | 1.40 | |

Per quanto riguarda i controlli si nota come nelle colture sterili il sale che più abbia contribuito alla solubilizzazione della potassa sia stato il solfato ammonico; seguono il nitrato ammonico e il nitrato di calcio.

Nelle colture attive, invece, il sale che più avrebbe contribuito alla solubilizzazione leucitica si dimostrò il nitrato ammonico, al quale fece seguito il nitrato di calcio e poi, infine, in misura relativamente scarsa, il solfato di ammonio.

Ma per l'interpretazione di questo fatto è da avere presente quanto fu rilevato nella precedente ricerca. La potassa in soluzione nei liquidi di coltura — contrariamente a quanto il meccanismo dei sali determinanti una « reazione fisiologica »

avrebbe potuto far presumere — *può risultare in proporzioni minori per il fatto di essere stata assorbita dai microrganismi ed essere quindi passata nei loro materiali costituenti plastici.*

Rinvenire un determinato peso di potassa in soluzione nel liquido colturale non significa, in senso assoluto, che una determinata specie ne solubilizzi più o meno di un'altra. *Il fatto è relativo all'entità dello sviluppo;* è perciò che il problema della utilizzazione microbiologica della leucite si sposta in un altro ordine di idee come è stato sopra accennato ed esige ulteriore sperimentazione.

III.

# CONCLUSIONE.

1. — *Gli ordinari metodi di sterilizzazione influiscono sulla solubilizzazione della potassa leucitica.*

2. — *Tra essi quello ad azione più energica si dimostrò la pausterizzazione, mentre, per contro, quello ad azione più blanda fu il riscaldamento in vapore acqueo a 125° per 12 minuti.*

3. — *La solubilizzazione microrganica della potassa leucitica è ammissibile, ma lenta, difficile e non raggiunge valori considevoli.*

4. — *La dimostrazione di questo fatto è correlazionata alla determinazione del valore di utilizzazione della potassa per la costituzione del corpo dei microrganismi quale materiale plastico ed esige ulteriore studio.*

5. — *La presenza di alcuni sali nei liquidi contenenti in sospensione leucite può influire diversamente sulla solubilizzazione e sulla utilizzazione microrganica della sua potassa, probabilmente in rapporto alla reazione fisiologica da essi determinata.*

Dal Laboratorio di Batteriologia Agraria del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa, ottobre 1928 - Anno VII.